

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PISA



FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA

*Corso di Laurea Specialistica in Medicina e
Chirurgia*

DIPARTIMENTO DI MEDICINA INTERNA

Tesi di Laurea

Studio del microcircolo cutaneo mediante
flussimetria laser Doppler in soggetti esposti
cronicamente al fumo di sigaretta

Relatore

Chiar.mo Prof. Giuseppe Cini

Candidato

Valentina Fiaschi

ANNO ACCADEMICO

2007/2008

INDICE

Introduzione	pag. 3
<i>Flowmotion</i> e metodiche di studio	pag. 11
Fumo e microcircolo.....	pag. 18
Materiali e metodo.....	pag. 24
Risultati.....	pag. 28
Discussione.....	pag. 36
Conclusioni.....	pag. 42
Bibliografia.....	pag. 44

INTRODUZIONE

Il microcircolo comprende una estesa rete di piccoli vasi, rappresentati dalle arterie di calibro inferiore a $300\mu\text{m}$, dai capillari, dalle anastomosi artero-venose e dalle venule che, localizzandosi in modo ubiquitario a livello dei diversi organi nel nostro organismo, garantiscono l'apporto nutritivo, la cessione di ossigeno e la modulazione del flusso ai tessuti .

La funzione essenziale dei vasi che costituiscono il microcircolo è il trasporto di sangue e soluti agli organi e la rimozione dei prodotti del metabolismo cellulare.

La complessità e la abbondanza della vascolarizzazione di un organo sono direttamente proporzionali alle sue attività metaboliche.

Il flusso sanguigno nei capillari non è uniforme e dipende principalmente dallo stato contrattile delle arteriole; la

sua velocità media è di circa 1mm/s, anche se può presentare per brevi periodi e nello stesso capillare variazioni da zero a diversi millimetri al secondo.

Tali variazioni della velocità del flusso capillare possono essere di tipo casuale o mostrare un comportamento oscillatorio ritmico provocato dalla contrazione e dal rilasciamento (vasomotilità) delle arteriole.

Poiché il flusso ematico attraverso i capillari provvede allo scambio di gas e soluti tra il sangue ed i tessuti, esso è denominato *flusso nutrizionale*, mentre quello che cortocircuita i capillari per passare dal lato arterioso a quello venoso della circolazione è definito *flusso non nutrizionale*.

I capillari hanno pareti sottili e fenestrate, costituite da un unico strato di cellule endoteliali, selettivamente permeabili e permettono gli scambi tra sangue e tessuti.

Essi costituiscono la via di comunicazione più frequente tra arterie e vene.

Il loro calibro varia da organo ad organo: i capillari più esili (5-7 μm) si trovano nella retina, nel polmone, nei muscoli striati e nella sostanza grigia; quelli di diametro maggiore (fino a 20 μm) sono localizzati nella cute e nel midollo osseo.

In base alla loro struttura si possono distinguere tre tipi di capillari:

CAPILLARI CONTINUI: le cellule endoteliali hanno una forma appiattita e sono in contatto tra loro mediante giunzioni interdigitate in modo da formare un rivestimento continuo. Questo tipo di capillare si ritrova nel polmone, nell'encefalo, nella cute e nei muscoli striati.

CAPILLARI FENESTRATI: l'endotelio è disposto in modo discontinuo determinando delle fenestrature, dove sottili diaframmi fibrosi separano il lume vasale dalla

membrana basale. Questi capillari sono presenti nell'intestino tenue, nel pancreas e nel rene.

CAPILLARI SINUSOIDALI: presenti nel fegato, nella milza, nel midollo osseo ed in molte ghiandole endocrine. Il loro calibro non è uniforme, la parete è molto sottile e il lume è ampio, il decorso è tortuoso e si adatta al parenchima degli organi che li contengono.

L'integrità strutturale e funzionale dell'endotelio è un requisito fondamentale per il mantenimento della omeostasi all'interno delle pareti vasali e per l'equilibrio funzionale della circolazione.

L'endotelio vascolare è estremamente versatile, ha funzioni multiple e possiede numerose proprietà sintetiche e metaboliche, tra le quali il mantenimento della permeabilità di barriera, la modulazione del tono vascolare, la elaborazione di molecole procoagulanti,

anticoagulanti e antitrombotiche, la produzione di ormoni e la regolazione della funzione immunitaria e della risposta infiammatoria.

Pertanto negli ultimi decenni c'è stata una rivalutazione dell'endotelio che non è più considerato soltanto come un monostrato di cellule inerti, bensì come un elemento chiave nella fisiopatologia del sistema cardiovascolare.

Infatti le cellule endoteliali sono elementi attivi e dinamici nella interazione tra sangue e tessuti.

Nel corso degli ultimi anni sono stati individuati numerosi mediatori di origine endoteliale che partecipano a una varietà di funzioni vascolari (ossido nitrico, endotelina, prostaciclina, leucotrieni, trombassano A₂, etc).

Allo stesso modo è diventato chiaro che l'alterata produzione di questi mediatori (definita come *disfunzione*

endoteliale) è un fattore patogenetico essenziale di tutte le malattie cardiovascolari.

Il danno cronico endoteliale, che rappresenta il *primum movens* verso lo sviluppo della disfunzione endoteliale con tutte le sue conseguenze (prima tra tutte la aterosclerosi), può essere prodotto da numerosi fattori, tra cui il fumo di sigaretta, l'iperlipidemia, l'ipertensione ed il diabete.

Il fumo di sigaretta è uno dei fattori di rischio cardiovascolare potenzialmente controllabili più importanti, insieme alla dislipidemia, al diabete mellito ed all'ipertensione arteriosa.

Secondo stime elaborate dalla Organizzazione Mondiale della Sanità il fumo è causa di morte prematura per 4-5 milioni di individui nel mondo ogni anno.

Le stesse stime attribuiscono ad una origine cardiovascolare la maggior parte delle morti premature dovute al fumo.

Il fumo aggrava il rischio cardiovascolare in pazienti affetti da ipertensione arteriosa, iperlipidemia e resistenza insulinica [1].

Oltre all'infarto acuto del miocardio, il fumo aumenta il rischio di morte improvvisa, formazione di aneurismi aortici, vasculopatia periferica ed ictus cerebrale [1].

Mentre vi è una chiara dimostrazione degli effetti dannosi prodotti dal fumo a livello dei grossi vasi (accelerata progressione dell' aterosclerosi, disfunzione endoteliale) [2 , 3], meno chiari sono gli effetti del fumo sul microcircolo, una cui alterazione potrebbe concorrere a favorire l'aumentato rischio cardiovascolare presente nei soggetti esposti a questo fattore di rischio.

I pochi studi che hanno affrontato questo specifico aspetto hanno infatti fornito risultati discordanti.

Lo scopo di questo studio è stato quello di acquisire ulteriori dati sul possibile effetto dannoso del fumo di

sigaretta sulla funzionalità del microcircolo periferico,
studiando la *flowmotion* cutanea.

***FLOWMOTION* E METODICHE DI STUDIO**

La oscillazione del flusso ematico cutaneo, definita come *flowmotion*, è il risultato delle ritmiche variazioni di diametro arteriolare (*vasomotion*), come dimostrato da Colantuoni e Bertuglia [4].

Lo studio della *flowmotion* nell'uomo può essere effettuato a livello del microcircolo cutaneo mediante la flussimetria laser Doppler, metodica completamente non invasiva e facilmente eseguibile [5].

Il segnale di flusso, acquisibile mediante tale indagine in tempo reale, è generato dal movimento dei globuli rossi nei microvasi (arteriole terminali, capillari e venule post-capillari) [5].

La *vasomotion* e la conseguente *flowmotion* giocano un ruolo fondamentale nel favorire l'ottimale distribuzione

del flusso ematico nel microcircolo cutaneo contribuendo al mantenimento del gradiente pressorio nei capillari, determinando la riduzione delle resistenze microvascolari e favorendo il reclutamento (*recruitment*) dei capillari non perfusi [6, 7].

Pertanto, il loro studio mediante flussimetria laser Doppler permette di valutare importanti fattori che contribuiscono all'ottimale distribuzione del flusso ematico a livello microcircolatorio.

Lo studio della *flowmotion* cutanea, mediante l'analisi spettrale del segnale pervenuto dalla flussimetria laser Doppler, ha inoltre evidenziato cinque componenti, con diversa frequenza spettrale nell'ambito dell'intero spettro di frequenza compreso tra 0.009 e 1.6 Hz [8, 9].

Tre di queste componenti della *flowmotion* sono risultate correlate a meccanismi che controllano il tono arteriolare: una compresa tra 0.009 e 0.02 Hz, che

risulta correlata all'attività endoteliale; una con frequenza compresa tra 0.02 e 0.06 Hz, che risulta correlata alla attività simpatica; una con frequenza compresa tra 0.06 e 0.2 Hz, che risulta correlata alla attività della muscolatura liscia arteriolare.

Le altre due componenti sono il risultato della trasmissione delle modificazioni emodinamiche del microcircolo cutaneo all'attività respiratoria (0.2-0.6 Hz) ed a quella cardiaca (0.6-1.6 Hz) [9].

Dato che l'intensità spettrale delle varie componenti di *flowmotion*, rispettivamente di origine endoteliale, simpatica e miogenica, riflette l'efficienza di ciascuno dei relativi meccanismi nel controllare la vasomotilità, l'analisi spettrale del segnale laser Doppler è stato utilizzato in pazienti con diverse patologie al fine di

ottenere maggiori informazioni riguardo ai meccanismi microcircolatori in esse implicati [9] .

La *flowmotion* è stata studiata a livello cutaneo sia in condizioni basali sia in risposta a differenti stimoli, come l'ischemia [9].

La risposta microcircolatoria cutanea all'ischemia è il risultato di numerosi meccanismi, tra i quali l'accumulo di adenosina nell'area ischemica e il rilasciamento delle cellule muscolari lisce a seguito della caduta di pressione trasmurale nelle arterie di resistenza, che comportano l'iperemia post - ischemica cutanea [10 ,11].

L'analisi delle differenti componenti della *flowmotion* cutanea nella fase dell'iperemia post-ischemica può fornire informazioni riguardo alla efficienza dei meccanismi microcircolatori coinvolti in questo tipo di risposta del microcircolo [12 , 13].

Interessanti risultati sono stati ottenuti dallo studio della *flowmotion* cutanea nella arteriopatia ostruttiva periferica [14 , 15], nella ipertensione arteriosa essenziale [16], nel diabete mellito di tipo II [17] e nella ipercolesterolemia [18].

In questi studi la *flowmotion* cutanea è stata indagata sia in condizioni basali, sia in risposta a diversi stimoli, come l'ischemia cutanea e l'acetilcolina, che hanno determinato un incremento della vasomotilità endotelio - dipendente nei soggetti sani [19].

Nella arteriopatia obliterante degli arti inferiori l'incremento post - ischemico della vasomotilità, nelle componenti della *flowmotion* correlate alle attività endoteliale, simpatica e muscolare liscia, si è dimostrato molto ridotto, sia in risposta alla acetilcolina (vasodilatatore endotelio - dipendente) che al

nitroprussiato (vasodilatatore endotelio - indipendente) [14, 15].

Nei soggetti con ipertensione arteriosa essenziale le componenti di *flowmotion* correlate alle attività endoteliale, simpatica e muscolare liscia arteriolare hanno mostrato un decremento in risposta allo stimolo ischemico, mentre in condizioni basali si è osservata una normale intensità spettrale delle stesse componenti della *flowmotion* [16] .

Lo studio del microcircolo cutaneo nei soggetti diabetici ha dimostrato un decremento nella intensità spettrale della componente di *flowmotion* simpatico-dipendente e questo risultato suggerisce che la perdita del tono del sistema nervoso autonomo, oltre a determinare una disfunzione sensitivo - motoria, possa rappresentare il maggior determinante della aumentata permeabilità

capillare che si ritrova nei pazienti diabetici con neuropatia [17].

Nei pazienti con ipercolesterolemia senza patologia arteriosa clinicamente manifesta, la vasomotilità cutanea endotelio - dipendente in risposta alla acetilcolina è risultata decisamente alterata [18].

L'indagine della *flowmotion* cutanea in risposta a differenti stimoli vasoattivi ha dimostrato un importante ruolo dell'*ossido nitrico* nel controllo della vasomotilità cutanea endotelio - dipendente [9].

I dati riportati suggeriscono che la *flowmotion* può fornire utili informazioni per evidenziare precocemente i danni microvascolari conseguenti a molteplici condizioni patologiche che colpiscono il sistema vascolare [9].

FUMO E MICROCIRCOLO

L'esposizione cronica al fumo di sigaretta è una delle cause più importanti del danno vascolare sia a livello delle arterie di grosso calibro, sia a livello del microcircolo periferico, dove esercita un effetto nocivo ed è associato ad una disfunzione vascolare importante.

Diversi studi condotti su soggetti fumatori hanno evidenziato come l'azione tossica del fumo di sigaretta coinvolga i capillari nella loro funzione di regolazione emodinamica in risposta alla iperemia post - ischemica [20, 21 ,22 , 23 , 24].

In uno studio pubblicato su *Clinical Science* (2003) [20] è stato esaminato l'effetto acuto del fumo di sigaretta sulla funzione microcircolatoria in 12 soggetti sani fumatori.

Il flusso sanguigno è stato studiato con il laser Doppler.

I risultati ottenuti hanno sottolineato che il reclutamento capillare durante il picco della iperemia reattiva post-

ischemica è ridotto nei soggetti fumatori rispetto ai non fumatori.

Inoltre è stato evidenziato un decremento della vasodilatazione endotelio - dipendente indotta dalla somministrazione di acetilcolina nei soggetti fumatori.

Pertanto questo studio ha messo in evidenza come l'effetto acuto del fumo di sigaretta comporti un danneggiamento capillare che si manifesta sia nella riduzione del reclutamento capillare durante l'iperemia reattiva post - ischemica, sia nel decremento della vasodilatazione mediata dall'endotelio.

Gli effetti acuti e cronici sul microcircolo cutaneo dovuti alla esposizione al fumo di sigaretta sono stati oggetto di ricerca di uno studio pubblicato su *Angiology* (1992) [21], nel quale vengono presi in considerazione soggetti giovani sani fumatori e non fumatori.

Per valutare questi effetti è stata indagata l'iperemia post-ischemica del circolo cutaneo mediante il laser Doppler.

Il tempo di recupero dall'iperemia reattiva è stato più lungo nei soggetti fumatori rispetto ai non fumatori e il picco di flusso durante l'iperemia reattiva si è dimostrato significativamente più basso nei soggetti fumatori.

Pertanto gli autori hanno potuto concludere che il microcircolo cutaneo è influenzato dall'esposizione acuta e cronica al fumo di sigaretta nei soggetti giovani fumatori senza evidenza clinica di patologia vascolare.

Un ulteriore studio pubblicato su *American Heart Journal* (2002) [22] ha evidenziato che la risposta vasodilatatoria del microcircolo cutaneo conseguente alla iperemia post - ischemica è ridotta nei soggetti fumatori cronici rispetto ai non fumatori, a dimostrazione del fatto che il danno indotto dall'esposizione al fumo di sigaretta sulla parete dei microvasi altera tutti quei meccanismi che

sono alla base della regolazione del flusso in risposta a stimoli vasoattivi.

L'effetto acuto dell'esposizione al fumo di sigaretta sul microcircolo cutaneo è stato oggetto di uno studio pubblicato su *Dermatology* (1998) [23] nel quale sono stati messi a confronto soggetti fumatori abituali e soggetti non fumatori.

L'esposizione al fumo di una singola sigaretta ha provocato una riduzione del flusso ematico a livello cutaneo (misurato con metodica laser Doppler) in entrambi i gruppi di pazienti; il tempo di recupero è stato più veloce nei soggetti non fumatori rispetto ai fumatori abituali (2 minuti *vs* 5 minuti).

Pertanto questo studio ha messo in evidenza che, anche fumando una singola sigaretta, il flusso ematico cutaneo si riduce sia nei soggetti fumatori abituali, sia nei soggetti non fumatori.

Inoltre, la più lenta fase di recupero nei fumatori , ha suggerito che il loro microcircolo cutaneo viene danneggiato dal fumo.

Un recente studio pubblicato su *International Angiology* (2006) [24] ha mostrato che il microcircolo periferico dei soggetti fumatori è severamente alterato in rapporto al flusso ematico capillare , che non subisce modificazioni a diversi stimoli applicati a livello della piega cutanea tra 1^a e 2^a dito ed a livello del polpastrello del pollice.

La maggior parte degli studi condotti sull'esposizione al fumo di sigaretta tende a valutare soprattutto gli effetti che questo provoca sui vasi di conduttanza, dimostrando una disfunzione endoteliale con progressione verso la aterosclerosi.

Al contrario, relativamente pochi studi indagano sugli effetti che l'esposizione al fumo di sigaretta provoca sul

microcircolo cutaneo, in particolar modo sulle oscillazioni della perfusione misurate con il laser Doppler (*flowmotion* cutanea).

Il presente studio è stato condotto nel Laboratorio del Microcircolo curato dal Prof. Marco Rossi presso l'U.O. di Medicina dello Sport del Dipartimento di Medicina Interna , mediante flussimetria laser Doppler.

Lo scopo di questo studio è stato quello di acquisire ulteriori informazioni sul possibile effetto nocivo dell'esposizione cronica al fumo di sigaretta sulla funzionalità del microcircolo cutaneo nell'uomo.

MATERIALI E METODO

Sono stati arruolati 28 soggetti sani, normotesi, di cui 14 fumatori (> 20 sigarette /giorno per almeno 20 anni), di cui 12 maschi e 2 femmine, di età compresa tra 38 e 62 anni e 14 non fumatori (12 maschi e 2 femmine), di età compresa tra 40 e 62 anni.

Nessuno di questi soggetti ha assunto farmaci vasoattivi o anti-infiammatori nei 14 giorni precedenti lo studio, né cibo, alcool, caffè o tè nelle 8 ore precedenti l'inizio del test.

La perfusione ematica cutanea è stata misurata in Unità di Perfusioni convenzionali (PU: 1PU = 10 mV) mediante flussimetria laser Doppler attraverso una sonda posizionata sulla superficie mediale dell'avambraccio destro.

Il test della iperemia post - ischemica è stato eseguito su soggetto in posizione supina, dopo un periodo di immobilità in tale posizione della durata di 20 minuti.

L'ischemia dell'avambraccio è stata ottenuta mediante una cuffia pneumatica, gonfiata 30 mmHg al di sopra del valore della pressione sistolica del soggetto in esame.

Dopo 3 minuti di ischemia, la cuffia pneumatica è stata sgonfiata.

La perfusione ematica cutanea è stata registrata per 10 minuti in condizioni basali, durante i 3 minuti di ischemia e nei 10 minuti successivi all'ischemia.

L'iperemia post-ischemica massima è stata misurata sia come massimo valore di perfusione dopo l'ischemia, sia come incremento percentuale della perfusione rispetto al basale.

Sono stati inoltre misurati il tempo di picco (intervallo di tempo tra lo sgonfiamento della cuffia pneumatica e la massima perfusione) e il tempo di recupero (intervallo di tempo tra la massima perfusione e il ritorno ai valori basali).

E' stata eseguita analisi spettrale del tracciato laser Doppler registrato in condizioni basali e dopo l'ischemia, utilizzando un metodo di Fourier modificato.

L'intensità spettrale delle varie componenti di *flowmotion* [componente endoteliale (0.009-0.02 Hz); componente simpatica (0.02-0.06 Hz); componente muscolare liscia (0.06-0.2 Hz); componente respiratoria (0.2-0.6 Hz); componente cardiaca (0.6-1.6 Hz)] è stata misurata in PU^2/Hz .

Il valore di intensità spettrale dell'intero spettro di frequenza della *flowmotion* (compreso tra 0.009 e 1.6

Hz) in ogni singolo soggetto preso in esame è stato ottenuto dalla somma della intensità spettrale delle singole componenti di *flowmotion* misurate nello stesso soggetto.

I risultati sono stati espressi come valori medi \pm deviazione standard.

Per l'analisi statistica dei dati è stato utilizzato il test *t* di Student per campioni appaiati in modo da confrontare le differenze della perfusione e della *flowmotion* cutanea tra i soggetti fumatori e non fumatori prima e dopo l'ischemia.

Un valore di $p < 0.05$ è stato considerato statisticamente significativo .

RISULTATI

In condizioni basali non ci sono state significative differenze tra i valori medi della perfusione cutanea ottenuti nei soggetti fumatori cronici rispetto ai non fumatori.

A seguito della ischemia c'è stato un incremento statisticamente significativo della perfusione cutanea sia nei soggetti non fumatori, che nei fumatori cronici ($p < 0.00001$ e $p < 0.05$ rispettivamente).

Non ci sono state significative differenze nei valori medi della perfusione massima post-ischemica e nel tempo di picco tra i due gruppi.

I fumatori cronici hanno mostrato un maggiore tempo di recupero rispetto ai non fumatori ($p < 0.05$).

TABELLA 1

**VALORI MEDI BASALI E POST - ISCHEMICI
DELLA PERFUSIONE CUTANEA NEI
SOGGETTI FUMATORI E NON
FUMATORI**

	NON FUMATORI (n = 14)	FUMATORI (n = 14)
PERFUSIONE BASALE (PU)	13.5 ± 9.2 * p < 0.00001	14.6 ± 9.4 * p < 0.05
IPEREMIA POST- ISCHEMICA MASSIMA (PU)	59.6 ± 32.9	54.8 ± 31.8
TEMPO DI PICCO (s)	12.4 ± 10.4	12.3 ± 10.0
TEMPO DI RECUPERO (s)	50.4 ± 28.8 **	76.7 ± 39.1

* valore di p tra prima e dopo l'ischemia nei due gruppi

** $p < 0.05$ tra i non fumatori ed i fumatori

I valori medi di intensità spettrale dell'intero spettro di frequenza della *flowmotion* cutanea (0.009-1.6 Hz) in condizioni basali non hanno mostrato differenze significative tra i due gruppi di studio.

Il valore medio dell'intero spettro di frequenza della *flowmotion* cutanea nella fase post-ischemica è aumentato in modo significativo rispetto al basale nei non fumatori ($p < 0.05$), mentre non vi è stato alcun aumento significativo di tale parametro nei soggetti fumatori.

TABELLA 2

VALORI MEDI BASALI E POST-ISCHEMICI DELL' INTERO SPETTRO DI FREQUENZA DELLA *FLOWMOTION* NEI SOGGETTI FUMATORI E NON FUMATORI

	NON FUMATORI (n = 14)	FUMATORI (n = 14)
CONDIZIONI BASALI (PU ² /Hz)	1.93 ± 1.35 * $p < 0.005$	2.14 ± 1.58
DURANTE IPEREMIA POST-ISCHEMICA (PU ² /Hz)	4.25 ± 3.23	2.71 ± 1.64

* valore di p tra prima e dopo l'ischemia nei non fumatori

In condizioni basali i valori medi di intensità spettrale delle diverse componenti di *flowmotion* cutanea non hanno mostrato differenze statisticamente significative tra i fumatori ed i non fumatori, con la sola eccezione dell'intervallo di frequenza compreso tra 0.2 e 0.6 Hz, relativo alla attività respiratoria, che ha mostrato un valore medio significativamente più alto nei fumatori ($p < 0.05$).

TABELLA 3

**VALORI MEDI BASALI PER OGNI
INTERVALLO DI FREQUENZA DELLA
FLOWMOTION NEI FUMATORI E NEI
NON FUMATORI**

INTERVALLO DI FREQUENZA DELLA <i>FLOWMOTION</i>	NON FUMATORI (n = 14)	FUMATORI (n = 14)
	BASALE (PU ² /Hz)	BASALE (PU ² /Hz)
ENDOTELIO (0,009-0,02 Hz)	0.59 ± 0.53	0.58 ± 0.53
SIMPATICO (0,02-0,06 Hz)	0.57 ± 0.50	0.62 ± 0.52
MUSCOLO LISCIO (0,06-0,2 Hz)	0.35 ± 0.20	0.36 ± 0.22
ATTIVITA' RESPIRATORIA (0,2-0,6 Hz)	0.15 ± 0.08 *	0.31 ± 0.25 *
ATTIVITA' CARDIACA (0,6-1,6 Hz)	0.28 ± 0.21	0.27 ± 0.30

* $p < 0.05$ tra i due gruppi

Nella fase post-ischemica, le componenti di *flowmotion* cutanea correlate alle attività endoteliale, simpatica, muscolare liscia e respiratoria hanno mostrato un incremento significativo nella loro intensità spettrale rispetto al basale nei soggetti non fumatori ma non nei fumatori cronici, con l'eccezione dell'intervallo di frequenza compreso tra 0.6 e 1.6 Hz (correlato alla attività cardiaca) che ha mostrato un incremento significativo anche nei fumatori cronici.

TABELLA 4

**VALORI MEDI BASALI E POST-ISCHEMICI
PER OGNI INTERVALLO DI FREQUENZA
DELLA *FLOWMOTION* NEI FUMATORI E
NEI NON FUMATORI**

INTERVALLO DI FREQUENZA DELLA <i>FLOWMOTION</i>	NON FUMATORI (n = 14)		FUMATORI (n = 14)	
	BASALE (PU ² /Hz)	DOPO ISCHEMIA (PU ² /Hz)	BASALE (PU ² /Hz)	DOPO ISCHEMIA (PU ² /Hz)
ENDOTELIO (0,009-0,02 Hz)	0.59 ± 0.53	1.40±1.17** * $p < 0.005$	0.58 ± 0.53	0.65±0.41**
SIMPATICO (0,02-0,06 Hz)	0.57 ± 0.50	1.25 ± 1.03 * $p < 0.01$	0.62 ± 0.52	0.78± 0.57
MUSCOLO LISCIO (0,06-0,2 Hz)	0.35 ± 0.20	0.79±0.56** * $p < 0.005$	0.36 ± 0.22	0.44±0.24**
ATTIVITA' RESPIRATORIA (0,2-0,6 Hz)	0.15 ± 0.08**	0.31 ± 0.29 * $p < 0.05$	0.31 ± 0.25**	0.33± 0.26
ATTIVITA' CARDIACA (0,6-1,6 Hz)	0.28 ± 0.21	0.50 ± 0.45 * $p < 0.05$	0.27 ± 0.30	0.50±0.58 * $p < 0.05$

* valore di p tra basale e dopo-ischemia in entrambi i gruppi;

** $p < 0.05$ tra i due gruppi.

DISCUSSIONE

Questo studio ha valutato la perfusione cutanea dell'avambraccio e la *flowmotion* cutanea in condizioni basali e a seguito dell'ischemia in soggetti fumatori e non fumatori.

La perfusione cutanea in condizioni basali e a seguito della ischemia non ha mostrato differenza tra i non fumatori ed i fumatori; tuttavia i soggetti fumatori hanno manifestato un più lungo tempo di recupero della perfusione a seguito del picco dell'iperemia post-ischemica rispetto al gruppo di controllo.

In condizioni basali non si sono osservate differenze significative tra fumatori cronici e soggetti di controllo non fumatori per quanto riguarda sia i parametri di flusso, che i parametri di *flowmotion* presi in esame, con la sola eccezione dell'intervallo di frequenza di *flowmotion* compreso tra 0.2 e 0.6 Hz (correlato alla attività

respiratoria) che ha mostrato un valore medio più alto nei fumatori.

Nella fase della iperemia post-ischemica, contrariamente ai non fumatori, i soggetti fumatori non hanno mostrato alcun incremento significativo della *flowmotion* cutanea, sia per quanto riguarda l'intero spettro, sia per quanto riguarda le cinque distinte componenti prese in esame, con l'unica eccezione della componente correlata alla attività cardiaca (0.6 - 1.6 Hz), la quale ha mostrato un incremento significativo anche nei fumatori.

La vasomotilità riveste un ruolo fondamentale nel determinare una ottimale distribuzione del flusso ematico a livello del microcircolo [4, 15, 25, 26], per cui valutando le sue conseguenze emodinamiche, attraverso lo studio della *flowmotion* cutanea, si possono acquisire ulteriori elementi utili alla valutazione della funzionalità del microcircolo cutaneo.

I risultati ottenuti dal presente studio nei soggetti non fumatori concordano con quelli ottenuti in precedenti studi condotti in soggetti sani [15 , 19 , 27 , 28], nei quali la *flowmotion* cutanea , sia nelle sue cinque distinte componenti, sia nel suo intero spettro, ha mostrato un aumento significativo nella fase dell'iperemia post-ischemica rispetto al basale.

L'assenza dell'incremento post-ischemico della *flowmotion* osservata nel presente studio nei soggetti fumatori cronici suggerisce una alterazione funzionale del microcircolo cutaneo.

Dato che l'esame laser Doppler del microcircolo cutaneo sembra riflettere lo stato del microcircolo in altri distretti [12], i risultati ottenuti nello studio della *flowmotion* cutanea nei soggetti fumatori potrebbe riflettere una analoga alterazione in altri organi degli stessi soggetti.

L' attività dell' endotelio e della muscolatura liscia arteriolare è già stata oggetto di studio nei soggetti fumatori cronici [22 , 29 , 30].

È' stato riportato che la risposta vasodilatatoria alla acetilcolina (vasodilatatore endotelio-dipendente) ed al nitroprussiato (vasodilatatore endotelio-indipendente), valutata con il laser Doppler, risultava ridotta nei soggetti fumatori, sia nella sua componente endoteliale che in quella muscolare liscia.

Tale risultato concorda con i dati ottenuti nel presente studio relativamente alle componenti di *flowmotion* cutanea correlate alla attività endoteliale e muscolare liscia arteriolare.

Nei soggetti fumatori una più alta intensità spettrale della *flowmotion* correlata alla attività respiratoria potrebbe essere una conseguenza indiretta del danno delle vie respiratorie indotto dal fumo [31].

Tuttavia il presente studio non ha previsto una valutazione della funzionalità respiratoria ed una possibile correlazione di questo tipo non è stata indagata.

Il dato di una più lunga durata della iperemia post-ischemica riscontrato nei soggetti fumatori, potrebbe rappresentare un meccanismo compensatorio del danno funzionale del microcircolo legato al fumo [22].

Diversi studi hanno riportato un aumento della viscosità plasmatica e del fibrinogeno nei soggetti fumatori [22, 29, 32, 33, 34].

Queste alterazioni potrebbero essere la causa delle perturbazioni della *flowmotion* cutanea che abbiamo riscontrato nel nostro studio.

Tuttavia, ad oggi non sono disponibili dati certi riguardo all'influenza della viscosità ematica sulla *flowmotion* cutanea.

Ulteriori studi sono necessari per indagare questa possibile correlazione.

CONCLUSIONI

Il principale risultato del presente studio è stato un ridotto incremento post-ischemico della *flowmotion* cutanea nei soggetti fumatori, insieme ad una iperemia cutanea post-ischemica relativamente conservata.

Considerando l'importante ruolo della vasomotilità e della conseguente *flowmotion* nel favorire una ottimale distribuzione del flusso sanguigno nel letto microvascolare, la riduzione dell'incremento post-ischemico della *flowmotion* cutanea nei soggetti fumatori potrebbe rappresentare la prima alterazione funzionale microcircolatoria dovuta all'esposizione cronica al fumo di sigaretta.

Tale alterazione della *flowmotion* suggerisce una compromissione dei più intimi meccanismi di regolazione del microcircolo periferico, che potrebbe concorrere al

rischio cardiovascolare cui sono esposti i soggetti fumatori.

In particolare, la riduzione dell'incremento post-ischemico della *flowmotion* cutanea nelle sue componenti endoteliale e muscolare liscia suggerisce una disfunzione microcircolatoria endoteliale e miogenica associata al fumo.

BIBLIOGRAFIA

[1] Centers for Disease Control *The Health Consequences of Smoking: Nicotine Addiction. A Report of the Surgeon General*. Rockville MD U.A. Department of Health and Human Service, Public Health Service, Centers for Disease Control, 1988.

[2] Witterman JC, Grobbee DE, Valkenburg HA, van Hemert AM, Stijnen T, Hofman A, *Cigarette Smoking and the Development and Progression of Aortic Atherosclerosis. A 9-years Population-Based Follow-up Study in Women*, Circulation 1993 Nov; 88 (5 Pt 1) : 2156-62.

[3] Whisnant JP, Homer D, Ingall TJ, Baker HL jr, O'Fallon WM, Wievers DO, *Duration of Cigarette Smoking is the Strongest Predictor of Several Extracranial Carotid Artery Atherosclerosis* Stroke 1990 May; 21(5): 707-14.

[4] Colantuoni A, Bertuglia S, Intaglietta M, *Microvascular Vasomotion: Origin of Laser Doppler Flowmotion*, Int. J. Microvasc. Clin. Exp. 1994; 14; 151-8.

[5] Schabauer AMA, Rooke TW, *Cutaneous Laser Doppler Flowmetry: Applications and Findings*, Mayo Clin. Proc. 1994; 69: 564-74.

[6] Schmid – Schoembein H. et al. Bibl. Anat. 1981.

[7] Nicol P. A. et al. Angiology 1952; 6: 291 – 310.

[8] Rossi M, Carpi A, Galetta F, Franzoni F, Santoro G, *Skin Vasomotion Investigation: an Useful Tool for Clinical Evaluation of Microvascular Endothelial Function?*

[9] Rossi M, Carpi A, Galetta F, Franzoni F, Santoro G, *The Investigation of Skin Blood Flowmotion: a New Approach to Study the Microcirculatory Impairment in Vascular Diseases?* Biomed. Pharmacother. 2006 Sep; 60 (8): 437-42.

[10] Patterson GC. The role of intravascular pressure in the causation of reactive hyperaemia in the human forearm. Clin. Sci. 1956;15:17-25.

[11] Roddie IC. *Circulation to Skin and Adipose Tissue*. In “*The Cardiovascular System*”, (SR. Geiger, Ed) 1983; 285-317 Bethesda Maryland.

[12] Stewart J, Kohen A, Brouder D, Rahim F, Adler S, Garrick R, Goligorsky MS, *Noninvasive Interrogation of Microvasculature for Signs of Endothelial Dysfunction in Patients with Chronic Renal Failure*, Am. J. Heart Circ. Physio. 1287 (2004) , H 2687- 2696.

[13] Bernardi L, Rossi M, Leuzzi S, Mevio E, Fornasari G, Calciati A, Orlandi C, Fratino P, *Reduction of 0,1 Hz Microcirculatory Fluctuations as Evidence of Sympathetic Dysfunction in Insulin-dependent Diabetes*, Cardiovasc. Res. 1997; 34:185-91.

[14] Anvar MD, Khiabani HZ, Kroese AJ, Stranden E, *Patterns of Skin Flowmotion in the Lower Limbs of Patients with Chronic Critical Limb Ischaemia and Oedema*, Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg. 2000; 20:536-44.

[15] Rossi M, Bertuglia S, Varanini M, Giusti A, Santoro G, Carpi A, *Generalised Wavelet Analysis of Cutaneous Flowmotion During Post-occlusive Reactive Hyperemia in Patients whit Peripheral Arterial Obstructive Disease*, Biomed. Pharmacother 2005;59:233-9.

[16] Rossi M, Carpi A, Di Maria C, Galetta F, Santoro G, *Spectral Analysis of Laser Doppler Skin Blood Flow Oscillations in Human Essential Arterial Hypertension*, Microvasc. Res. 2006; 72:34-41.

[17] Schmiedel O, Schroeter ML, Harvey JN, *Microalbuminuria in Type 2 Diabetes Indicates Impaired Microvascular Vasomotion and Perfusion*, Am J Physiol Heart Circ. Physiol. 2007; 293: H3425-31.

[18] Rossi M, Carpi A, Di Maria C, Franzoni F, Galetta F, Santoro G, *Skin Blood Flowmotion and Microvascular Reactivity Investigation in Hypercholesterolemic Patients Whitout Clinically Manifest Arterial Diseases*, Physiol. Res. 2008 Jan 17.

[19] Rossi M, Ricco R, Carpi A, *Spectral Analysis of Skin Laser Doppler Blood Perfusion Signal During Cutaneous in Response to Acetylcholine Iontophoresis and Ischemia in Normal Subjects*, Clin. Hemorheol. Microcirc. 2004;31:303-10.

[20] Ijzerman RG, Serne EH, van Weissenbruch MM, de Jongh RT, Stehouwer CD, *Cigarette Smoking is Associated with an Acute Impairment of Microvascular Function in Humans*, Clinical Science 2003 Mar; 104 (3):247-52.

[21] Tur E, Yosipovitch G, Oren-Vulfs S, *Chronic and Acute Effects of Cigarette Smoking on Skin Blood Flow*, Angiology 1992 Apr; 43 (4): 328-35.

[22] Pellanton C, Kubli S, Feihl F, Waeber B, *Blunted Vasodilatory Responses in the cutaneous Microcirculation of Cigarette Smokers*, American Heart Journal 2002 Aug; 144 (2):269-74.

[23] Monfrecola G, Riccio G, Savarese C, Posteraro G, Procaccini EM, *The Acute Effect of Smoking on Cutaneous Microcirculation Blood Flow in Habitual Smokers and Nonsmokers*, Dermatology 1998; 197 (2): 115-8.

[24] Midttun M, Sejrson P, Paaske WP, *Smokers have Severely Disturbed Peripheral Micro-Circulation*, Int. Angiol. 2006 Sep; 25 (3): 293-6.

[25] Bertuglia S, Colantuoni A, Coppini G, Intaglietta M, *Hypoxia- or Hypoxia- induced Changes in Arteriolar Vasomotion in Skeletal Muscle Microcirculation*, Am. J. Physiol. 260 (1991), H 362-372.

[26] Bertuglia S, Colantuoni A, Intaglietta M, *Effects of L-NMMA and Indomethacin on Arterial Vasomotion in Skeletal Muscle Microcirculation of Conscious and Anesthetized Animals*, Microvasc. Res. 48 (1994), 68-84.

[27] Rossi M, Maurizio S, Carpi A, *Skin Blood Flowmotion Response to Insulin Iontophoresis in Normal Subjects*, Microvasc. Res. 70 (2005), 17-22.

[28] Wilkin JK, *Periodic Cutaneous Blood Flow During Postocclusive Reactive Hyperemia*, Am. J. Physiol. 250 (1986), H765-768.

[29] T. Heitzer, H. Just, T. Munzel, *Antioxidant Vitamin C Improves Endothelial Dysfunction in Chronic Smokers*, *Circulation* 1996 ; 94:6-9.

[30] Dalla Vecchia L, Palombo C, Ciardetti M, Porta A, Milani O, Kozakova M, Lucini D, Pagani M, *Contrasting Effects of Acute and Chronic Cigarette Smoking on Skin Microcirculation in Young Healthy Subjects*, *J. Hypertens.* 22 (2004), 129-135.

[31] Jaakkola MS, Ernest P, Jaakkola JJ, N'gan'ga LW, Becklake MR, *Effect of Cigarette Smoking on Evolution of Ventilatory Lung Function in Young Adult: an Eight Years Longitudinal Study*, *Thorax* 46 (1991), 907-913.

[32] Dintenfass L, *Elevation of Blood Viscosity, Aggregation of Red Cell, Haematocrit Values and Fibrinogens Levels with Cigarette Smokers*, *The Medical Journal of Australia* 1975, May; 1 (20): 617-20.

[33] Lowe GD, Drummond MM, Forbes CD, Barbenel JC, *The Effects of Age and Cigarette-Smoking on Blood and Plasma Viscosity in Men*, *Scottish Medical Journal* 1980 Jan; 25 (1):13-7.

[34] Parthimos D, Edwards DH, Griffith TM, *Comparison of Chaotic and Sinusoidal Vasomotion in the Regulation of Microvascular Flow*, Cardiovasc. Res. 31 (1996), 388-399.

[35] Berne RM, Levy MN, *Fisiologia*, IV^a edizione, Casa Editrice Ambrosiana.

[36] Forconi S. *Microcircolo: Aspetti Morfologici e Funzionali*, Società italiana di Emoreologia Clinica e Microcircolazione, Centro Scientifico Editore.

[37] Robbins, Cotran, Kumar, Collins, *Le Basi Patologiche delle Malattie*, VI^a edizione, Ediz. PICCIN.

